Jl S. Afr. Bot. 39 (2): 113–121 (1973)

'N EMBRIOLOGIESE ONDERSOEK VAN *ROMULEA ROSEA* ECKL. VAR. *REFLEXA* BEG.*

1. Die bou, ontwikkeling en bevrugting van die saadknop.

E. Steyn

(*Departement Algemene Plantkunde, Universiteit van Pretoria*)

UITTREKSEL

Die anatrope saadknop van *Romulea rosea* var. *reflexa* het 'n meerlagige buite-integument wat nie deelneem aan die vorming van die mikropielkanaal nie. Lg. word slegs deur die binne-integument gevorm. Aan die basis van die funiculus kom 'n klein obturator voor.

'n Primêre pariëtale sel word van die subepidermale archesporiumsel afgesny, maar in die volwasse saadknop is geen nucelluskap aanwesig nie. 'n Liniêre makrospoortetrade ontstaan en die chalazale een ontwikkel tot die monospore, agtkernige embriosak.

'n Klein hipostase kom voor en die groot antipodes word gedra op 'n nucelluspilaartjie. Die sinergiede het lang nekke met 'n duidelike Fadenapparat.

Bevrugting van die eiersel is waargeneem.

Die embriologiese kenmerke van *R. rosea* word vergelyk met die van twee Suid-Europese spesies, nl. *R. bulbocodium* en *R. columnae*.

ABSTRACT

THE EMBRYOLOGY OF *ROMULEA ROSEA* ECKL. VAR. *REFLEXA* BEG. 1. THE STRUCTURE, DEVELOPMENT AND FERTILISATION OF THE OVULE. The anatropous ovule of *Romulea rosea* var. *reflexa* has a many-layered outer integument which does not contribute to the micropylar canal. The latter is formed by the two-layered inner integument only. At the base of the funiculus is a small obturator.

A parietal cell is cut off, but the mature ovule has no nucellar cap. A linear tetrad of megaspores develops of which the chalazal one becomes the monosporic eight-nucleate embryo sac.

A small hypostase is present and the well-developed antipodals are supported by a nucellar columella. The synergids have long necks in which a *Fadenapparat* can be distinguished.

Fertilisation of the ovule could be studied.

The embryological characteristics of *R. rosea* are compared with those of two South European species, viz *R. bulbocodium* and *R. columnae*.

INLEIDING

Romulea Maratti is 'n soortryke genus van die Iridaceae met 61 soorte in Suid-Afrika (Phillips, 1951) en word hoofsaaklik in Wes-Kaapland aangetref waar hulle as „knikkertjies" in die volksmond bekend staan. *R. rosea* Eckl. var *reflexa* Beg. kom as 'n pionier in uitgetrapte veld, op grasperke en langs sypaadjies voor. Die klein ligpers, stervormige blommetjies verskyn in die

* 'n Verkorte weergawe van 'n deel van 'n verhandeling goedgekeur vir die graad Magister in die Natuurwetenskappe aan die Universiteit van Stellenbosch.

Accepted for publication 5th December 1972.

lente en word styf teenaan die grondoppervlak gedra tussen die lang, silindriese, unifasiale blare.

Die embriologie van *Romulea* was tot dusver feitlik onbekend, behalwe vir die werk van Ferraris (1902) en Béguinot (1907) wat die saadknoppe van twee Suid-Europese *Romulea*-soorte ondersoek het. Beide se bevindings is in nagenoeg ontoeganklike Italiaanse tydskrifte gepubliseer en het derhalwe nie die regmatige aandag van latere embrioloë wat die Iridaceae ondersoek het, geniet nie.

Ten einde die embriologie van 'n Suid-Afrikaanse *Romulea*-spesies wat volgens die knolkenmerke gevorderd is (Lewis, 1954 en De Vos, 1965) te vergelyk met die van die reeds ondersoekte, primitiewer Suid-Europese spesies, is 'n gedetailleerde embriologiese ondersoek uitgevoer op *R. rosea* var. *reflexa*.

Materiaal en Metodes

Jong blomknoppe, oop en ouer blomme, vrugte en sade van *Romulea rosea* var. *reflexa* is in F.A.A. gefikseer. Omdat die kutikulalae van die saadknop gedurende saadvorming verdik, is ouer saadknoppe uitgedissekteer en die saadhuide beskadig voor fiksering. Nadat die materiaal in paraffienwas ingebed is, is mikrotoomsneë van wisselende diktes na gelang die ouderdom en aard van die meteriaal gemaak.

Heidenhain se hematoksilien en anilienblou het die beste resultate vir saadknopkleuring gelewer. Vaughan (1955) se metode is gebruik met pikriensuur in plaas van ysteraluinoplossing.

Alle tekeninge is gemaak met 'n Zeiss-Promartekenapparaat of 'n Wildtekenbuis.

Ondersoek

Posisie en vorm van die saadknop.

Die onderstandige, driehokkige vrugbeginsel van *Romulea rosea* var. bevat twee rye asstandige, anatrope saadknoppe in elke vrughok. Die rafe van die saadknop is dik (in die volwasse saadknop is die rafe ongeveer 100 μm in deursnee) en bevat die vaatbondel wat in die chalaza naby die basis van die embriosak eindig.

Aanvanklik is die saadknop halfgebuig en die buiging tot die anatrope posisie vind plaas gedurende makrosporogenese in die distale deel van die funiculus. 'n Effense buiging van die integumente en nucellus kan ook waargeneem word (fig. 3).

Aan die basis van die funiculus aan die kant van die mikropiel kom 'n klein oburator voor (fig. 8).

ONTWIKKELING VAN DIE SAADKNOP

Die obturator

Die klein obturator begin ontwikkel uit 'n aantal funiculêre epidermisselle wanneer die funksionerende chalazale makrospoor begin vergroot (fig. 3). Die selle is palissadeagtig, dunwandig en sitoplasmaryk. Na 'n aantal antiklinale delings ontstaan 'n uitstulping van 'n eenlagige groepie dig opmekaargeleë selle (fig. 8). Lg. vergroot tot met antese wanneer elke sel ongeveer 29 μm lank en 8,5 μm breed is aan die seltop, maar smaller aan die selbasis.

Voor of met bevrugting verleng die pallisade-agtige selle om 'n massa lang, dunwandige gekronkelde buise te vorm waarvan sommige afgeroei in die mikropielkanaal. Skynbaar dien hierdie weefsel as 'n brug vir die stuifmeelbuis (Maheshwari, 1950). In saadknoppe wat nie bevrug is nie, het die palissadeagtige weefsel nie verder ontwikkel nie.

Die nucellus

Die nucelli ontwikkel as knopvormige, meristematiese uitstulpings op die omgevoude rande van die vrugblare. Dan het die aangrensende vrugblare reeds lateraal vergroei tot tussenskotte, maar die sentrale as van die vrugbeginsel is nog nie gevorm nie. Die nucellus groei tot 'n kort-silindriese struktuur, terwyl die integumente aangelê word (figs. 3 en 4).

Gedurende die ontwikkeling van die archesporium en makrospore bevat die saadknop 'n klein nucelluskap wat bestaan uit die nucellus-epidermis en sy derivate sowel as uit die derivate van die primêre pariëtale sel (fig. 4). Die nucelluskap bestaan uit groot, dunwandige, setmeelryke selle.

Onderkant en aangrensend aan die chalazale makrospoor is 'n paar verlengde, sitoplasmaryke nucellusselle (fig. 4) wat later dwars deel (figs. 5 en 6). Die selwande verdik (figs. 7 en 9) en verhout later, sodat die onderste helfte van die jong embriosak omgewe word deur verhoute selwande. Hierdie verhoute nucellusweefsel vorm 'n klein hipostase wat die afwaartse verlenging van die embriosak en die vernietiging van die dunwandige chalazale nucellusweefsel verhoed.

Die jong embriosak vergroot eers na die mikropilêre kant en die dunwandige nucelluskapweefsel word daardeur vernietig. Later vergroot die embriosak ook na die kante tot teenaan die binne-integument en brei dan na onder uit rondom die hipostase. Lg. bly as 'n pilaartjie oor in die wye basis van die embriosak (figs. 7 en 9) met die oorspronklike nou embriosakonderpunt as 'n keëlvormige instulping in die top van die hipostasepilaartjie.

Die volwasse embriosak is dus tenuinucellaat en die embriosakwand word van die binne-integument geskei slegs deur die oorgeblewe nucelluskutikula.

Die integumente

Die binne-integument ontwikkel as 'n kragie rondom die basis van die nucellus wanneer die archesporium verdeel (fig. 2). Effens later word die buite-

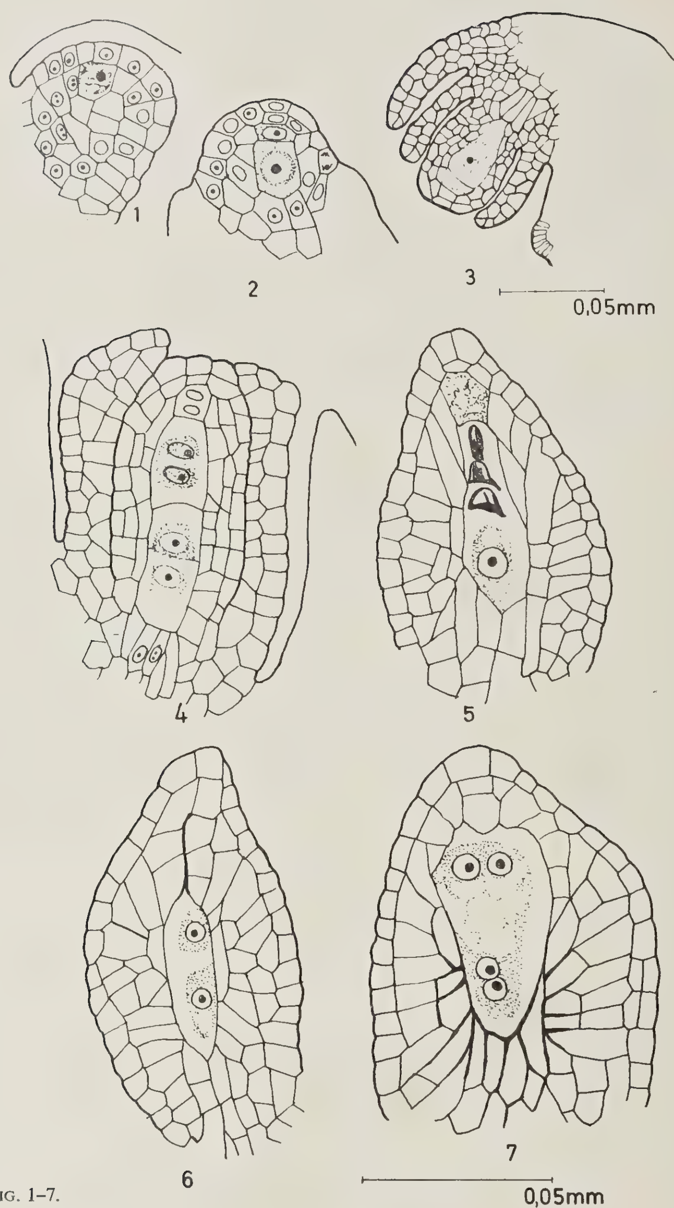


FIG. 1–7.

integument aangelê, maar is in 'n lengtedeursnee van die saadknop net sigbaar aan die teenoorgestelde kant van die rafe. Beide integumente verleng vinnig om die groeiende nucellus te bedek (fig. 3). Voordat makrosporogenese plaasvind, is die binne-integument ongeveer so lank soos die nucellus en bestaan dit uit twee sellae. Die buite-integument is effens korter as die binnenste, is drielagig aan die basis en ontbreek aan die kant van die rafe (fig. 3).

Die binne-integument vorm met verdere groei alleen die mikropielkanaal. Hierdie integument bestaan uit twee lae sitoplasmaryke, reëlmatige selle, d.w.s. slegs uit die twee epidermislae, behalwe in die mikropielkanaalstreek waar die integument verdik deurdat die buite-epidermisselle in verskeie rigtings deel. Wanneer die saadknop volwasse is, het die buite-epidermisselle onreëlmatig-verdikte gekutiniseerde wande, veral teenoor die verdwene nucelluskap en teenaan die mikropielkanaal.

Die buite-integument van die volwasse saadknop lê styf teenaan en is effens korter as die binnenste (fig. 8). In die mikropielkanaalstreek bestaan die integument uit minstens agt lae onreëlmatige, dunwandige selle, uitgesonderd die buite-epidermis. Lg. het reëlmatige donker, dikwandige, gekutiniseerde selle. Teenoor die embriosak is die buite-integument dunner.

Die archesporium en embriosak

Nog voordat die vrugblare volledig vergroei het om die sentrale as van die vrugbeginsel te vorm en voordat die integumente aangelê word, differensieer 'n subepidermale, nucellussel tot die archesporium (fig. 1). Hierdie sel verdeel wanneer die binne-integument aangelê word in die primêre pariëtale sel en die primêre sporogene sel (fig. 2). Die klein plat primêre pariëtale sel aan die buitekant vergroot en verdeel later meestal om deel van die nucelluskapweefsel te vorm.

Die primêre sporogene sel wat direk as makrospoormoedersel funksioneer, vergroot tot dit aan die begin van meiose meer as die helfte van die nucelluslengte beslaan (fig. 2).

Gedurende meiose word 'n liniêre makrospoortetrade gevorm (fig. 4). Die boonste twee makrospore is kleiner as die onderste twee en word in sommige gevalle nie deur selwande geskei nie (fig. 4). Die chalazale makrospoor funksioneer en verdruk die ander drie tot struktuurlose, kappievormige selreste

---

FIGS. 1–7.

Lengtesneë deur die ontwikkelende saadknop van *R. rosea* var. *reflexa:* Fig. 1, jong nucellus met vergrotende subepidermale archesporiumsel; Fig. 2, jong nucellus met binne-integumentanlage, primêre sporogene sel en primêre pariëtale sel onder 'n tweelagige nucellusepidermis; Fig. 3, jong saadknop met verlengende integumente en vergrote makrospoormoedersel net voor meiose; Fig. 4, verdelende pariëtale sel en vormende makrospoortetrade; Fig. 5, funksionerende makrospoor wat die ander makrospore verdruk; Fig. 6, tweekernige embriosak geleë onder die nucelluskap; Fig. 7, vierkernige embriosak wat die mikropilêre nucellus vernietig terwyl die selwande van die chalazale nucellusselle verdik.

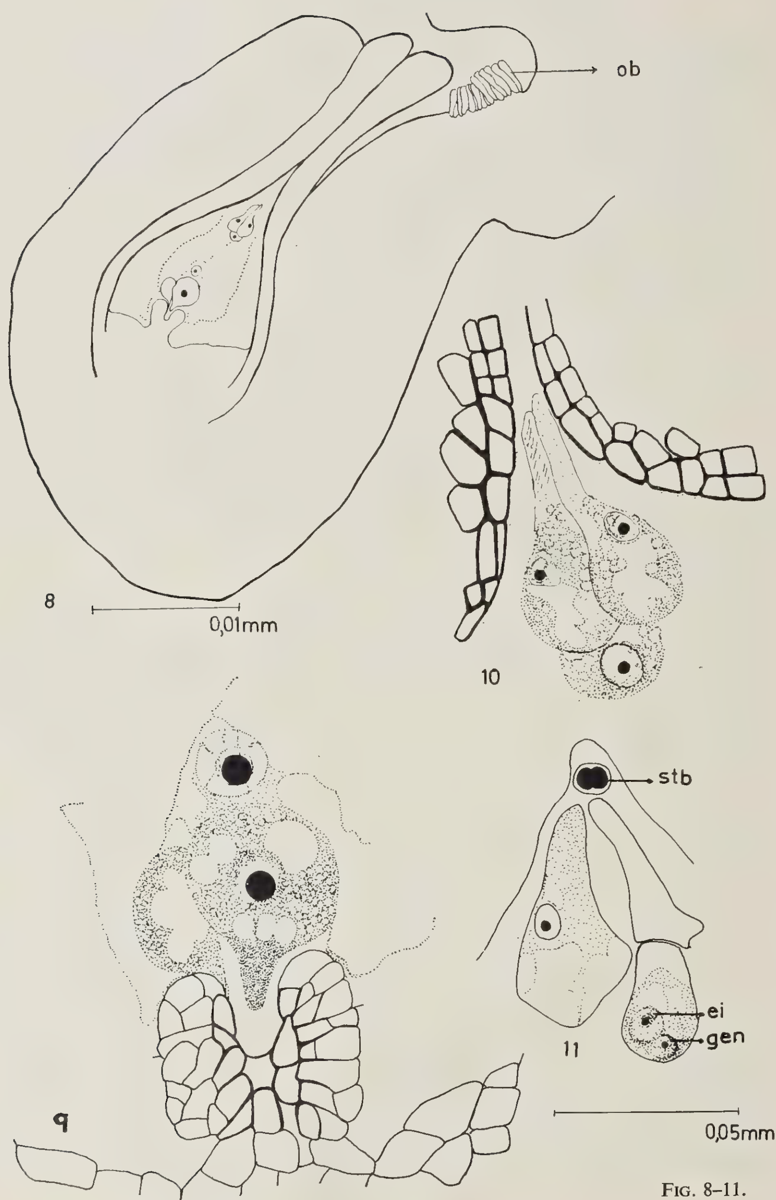


FIG. 8–11.

(fig. 5). Wanneer die aangrensende nucellusselle begin strek, word die reste lateraal platgedruk en verdwyn bokant die tweekernige embriosak (fig. 6).

In *R. rosea* var. *reflexa* word die mikropilêre en chalazale kwartetkerne gelyktydig gevorm. Die boonste vier kerne lê in die sitoplasmalaag van die wye embriosakbopunt en die onderste vier kerne in die nou onderpunt. Dikwels kan slegs sewe kerne onderskei word, omdat die twee poolkerne baie gou versmelt. Die sekondêre embriosakkern lê dan net bo die antipodekerne. As die embriosak nog relatief klein is, is die sekondêre embriosakkern verbind met die eierkern d.m.v. 'n aksiale sitoplasmastring, maar in die volwasse embriosak is hierdie verbinding moeilik om vas te stel.

Die sekondêre embriosakkern is rond of effens afgeplat aan die chalazale kant en ongeveer 20 μm in deursnee, met 'n opvallende groot nukleolus, yl chromatiennetwerk en 'n dun kernmembraan.

Die drie antipodes differensieer voor die eierselapparaatelemente, as omgekeerd-peervormige selle in die nou embriosakonderpunt. Namate die embriosak vergroot, stulp die bolvormige deel van die selle uit die embriosakonderpunt na bo. Die volwasse selle wat ongeveer 60 μm lank is en 'n maksimum deursnee van 43 μm het, word dus op die pilaarvormige hipostase gedra (fig. 9).

Die sinergiede is peervormige, styfteenmekaarliggende selle met lang, smal nekke wat deur die nucelluskutikula dring en tot aan die basis van die mikropielkanaal strek. Die sitoplasma is gekonsentreerd in die nek en rondom die kern wat in die middel van die sel teenaan die buitewand lê (fig. 10). Met antese is die sinergiede ongeveer 72 μm lank. Die 40 μm lang nekke bevat die sg. Fadenapparat wat helderblou met anilienblou kleur en die aanwesigheid van kallose suggereer.

Die eiersel is rond tot ovaalvormig en lê in die middel van, styf teenaan en effens laer as die twee sinergiede. Die kern en die meeste sitoplasma lê in 'n halfmaanvormige laag in die onderste selgedeelte (fig. 10). Met antese is die eiersel meestal 28 $\times$ 20 μm groot.

Bevrugting

In *R. rosea* var. *reflexa* dring waarskynlik net een stuifmeelbuis die saadknop deur die mikropiel binne. Slegs in een bevrugte saadknop is 'n tweede, onbeskadigde buis met 'n opgeswelde punt in die mikropielkanaal gekry.

Gedurende bevrugting word een sinergied deur die stuifmeelbuis vernietig. Na bevrugting is die oorblyfsels van die nek gewoonlik nog herkenbaar. Die ander sinergied bly behoue en gaan eers tot niet nadat die embrio die kwadrantstadium bereik het.

Figs. 8–11.
Mediane lentesneë deur die saadknop van *R. rosea* var. *reflexa:* Fig. 8, die saadknop net voor bevrugting; Fig. 9, die antipodes en sekondêre embriosakkern gedra op die nucelluspilaartjie; Fig. 10, die sinergiede en eiersel; Fig. 11, bevrugting van die eiersel: ob, obturator; ei, eierselkern; gen, spermkern; stb. stuifmeelbuis.

Met bevrugting dring een manlike gameet die eiersel binne en die ronde spermkern lê dan langs die eierkern (fig. 11). Die eierselkern behou sy vorm, maar die spermkern raak afgeplat, lê styf teen die eierkernwand en verdwyn langsamerhand. Die nukleolus is in die laaste stadia van versmelting nog sigbaar buitekant die eierkernwand. Die bevrugte eierkern bevat twee nukleoli waarvan die een, afkomstig van die spermkern, kleiner is as dié van die eiersel.

Die versmelting van die tweede manlike gameet is nie gesien nie. Die eerste endospermkerne is kleiner as die sekondêre embriosakkern en lê in die aksiale sitoplasmastring wat die eierapparaat met die antipodes verbind, of in die wandstandige sitoplasma naby die antipodes se basisse. Gewoonlik het die endospermkerne 'n groot en 'n klein nukleolus en in enkele gevalle is drie nukleoli opgemerk.

Gedurende bevrugting en die aanvangstadia van endospermvorming is al drie antipodes nog aanwesig, maar hulle verdwyn voordat die sigoot begin deel.

Bespreking

Die huidige ondersoek toon die noue verwantskap tussen *R. rosea* var. *reflexa* van die Suidwestelike Kaap en *R. columnae* en *R. bulbocodium* van Suid-Europa. Nieteenstaande hulle geografies deur duisende myle, waarskynlik vanaf prehistoriese tye van mekaar geskei is, is die embriologiese verskille tussen die spesies, soos hieronder aangetoon word, gering.

1. Die saadknop van *R. rosea* var. het aan die basis van die funiculus 'n klein obturator wat afwesig is by die Suid-Europese soorte.
2. By *R. rosea* var. is die buite-integument van die saadknop dikker as die binne -integument, maar korter, sodat lg. alleen die mikropielkanaal vorm. Volgens Béguinot is beide integumente by die Suid-Europese soorte tweelagig. Die buite-integument is langer as die binnenste en vorm 'n eksostomium (Ferraris, 1902).
3. By *R. rosea* var. word gedurende meiose vier makrospore gevorm waarvan die boonste twee in sommige gevalle nie deur 'n selwand van mekaar geskei word nie. Volgens Ferraris (1902) word net drie makrospore in bg. twee *Romulea*-soorte gevorm. Die boonste diadesel verdeel nie, maar word vroeg plat gedruk.
4. Die agt kerne van die embriosak word by *R. rosea* var. gelyktydig gevorm, maar in die ondersoekte Suid-Europese soorte is die vorming van die mikropilêre kernkwartet vertraag. Wanneer daar reeds vier kerne in die embriosak-onderpunt is, deel die mikropilêre kern vir die eerste keer (Ferraris, 1902).
5. Die twee poolkerne in die agtkernige embriosak versmelt by *R. rosea* var. so gou dat daar gewoonlik net sewe kerne sigbaar is en die sekondêre embriosakkern het dan net een groot nukleolus. By *R. bulbocodium* en *R.*

columnae bly die twee poolkerne vir 'n tyd lank onderskeibaar en die twee nukleoli van die sekondêre embriosakkern versmelt eers later.

6. Die sinergiede bly by *R. rosea* var. langer sigbaar na bevrugting en is 72 μm lank, vergeleke met 43 μm by die Suid-Europese soorte, maar strek nie op in die mikropilumkanaal soos Béguinot (1907) beweer nie.

R. bulbocodium en *R. columnae* word weens sekere uitwendig-morfologiese kenmerke as primitief beskou, terwyl *R. rosea* meer gevorderd is (De Vos, 1968, persoonlike mededeling). Hier bied die embriologie geen bykomende getuienis nie, soos uit bg. klein verskille blyk, omdat embriologiese kenmerke waarskynlik meer konstant is as uitwendig-morfologiese kenmerke.

Literatuurverwysings

Béguinot, A., 1907. Revisione Monographica del genere Romulea Maratti. *Malpighia* **21**: 397.

De Vos, M. P., 1965. 'n Voorlopige verslag oor 'n biosistematiese ondersoek by die genus Romulea in Suid-Afrika. *Tydskr. Natuurw.* **5**: 135.

Ferraris, T., 1902. Ricerche embriologiche sulle Iridacee. *Annuar. R. Ist. bot. Roma.* **9**: 221.

Lewis, G. J., 1954. Some aspects of the morphology, phylogeny and taxonomy of the South African Iridaceae. *Ann. S. Afr. Mus.* **40**.

Maheshwari, P., 1950. *An introduction to the embryology of angiosperms.* London: McGraw-Hill.

Phillips, E. P., 1951. The genera of South African flowering plants. *Mem. bot. Surv. S. Afr.* **25**.

Vaughan, J. G., 1955. Staining angiosperm shoot apices with Heidenhain's iron hematoxilin and aniline blue. *Stain Technol.* **30**: 79.